

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA *Lactobacillus plantarum* 1
YANG DIISOLASI DARI SUSU KEDELAI
TERFERMENTASI SPONTAN**

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY of *Lactobacillus plantarum* 1
ISOLATED FROM SPONTANEOUS FERMENTED SOY MILK**

Arsi Wisti¹, Yusmarini² dan Rahmayuni²

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau
arsiwisti@gmail.com (085278559859)

ABSTRACT

The purpose of the study was to determine whether the isolates of *Lactobacillus plantarum* 1 isolated from spontaneously fermented soy milk as well as cell-free supernatants have antimicrobial properties against pathogenic bacteria. This research was carried out experimentally using completely randomized design (CRD) with four isolates as treatments and four replications. Antimicrobial activity was tested using the well diffusion method and the paper disc diffusion. Results of analysis of variance showed that the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolates and cell-free supernatant of the bacterium *Escherichia coli* FNCC-19 and *Staphylococcus aureus* FNCC-15 were significantly different ($P < 0.05$). Average inhibition zone diameter isolates of lactic acid bacteria against bacteria *Escherichia coli* FNCC-19 ranged from 0.00 to 5.95 mm and the diameter of inhibition zone *Staphylococcus aureus* FNCC-15 ranged from 0.00 to 4.38 mm. The average value of inhibition zone diameter of the cell-free supernatant of the bacterium *Escherichia coli* FNCC-19 ranged from 0.50 to 1.70 mm. The diameter of inhibition zone against *Staphylococcus aureus* FNCC-15 ranged between 0.40-0.50 mm. The results of this study indicate that the isolates of *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 and the supernatant has greater antimicrobial activity than isolates of *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2.

Keywords: Antimicrobials, Lactic acid bacteria and *Lactobacillus plantarum* 1

PENDAHULUAN

Antimikroba adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat mengganggu pertumbuhan dan aktivitas mikroba, khususnya mikroba perusak dan pembusuk makanan. Senyawa antimikroba dalam konsentrasi kecil mampu menghambat dan membunuh mikroorganisme. Senyawa antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteristatik (menghambat

pertumbuhan bakteri), fungisidal (membunuh kapang), fungistatik (menghambat pertumbuhan kapang) dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri). Senyawa antimikroba dapat berasal dari zat yang terdapat pada ekstrak tumbuhan dan hewan serta zat-zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme, salah satunya adalah kelompok bakteri asam laktat.

Bakteri asam laktat sering ditemukan secara alamiah dalam

bahan pangan. Bakteri ini hidup pada susu, daging segar, sayur-sayuran, buah-buahan dan dalam produk fermentasi. Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama dalam metabolisme karbohidrat. Bakteri asam laktat juga merupakan golongan mikroorganisme yang bermanfaat dengan sifat tidak toksik bagi inangnya dan mampu menghasilkan senyawa yang dapat membunuh bakteri patogen yang dikenal dengan senyawa antimikroba. Beberapa komponen atau senyawa antimikroba yang dapat dihasilkan bakteri asam laktat yaitu asam organik, karbondioksida, hidrogen peroksida, diasetil, reuterin dan bakteriosin.

Jenis-jenis bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan antimikroba yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc paramesentroides* dan *Pediococcus pentosaceus*. Beberapa hasil penelitian menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* mempunyai kemampuan untuk menghasilkan senyawa antimikroba seperti

Lactobacillus plantarum 1B1 (Tribowo, 2006) dan *Lactobacillus plantarum* sa28k (Kusumawati, 2002). *Lactobacillus plantarum* mempunyai kemampuan untuk menghambat mikroorganisme patogen pada bahan pangan dengan daerah penghambatan lebih besar dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya.

Yusmarini dkk. (2009) telah melakukan isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari susu kedelai yang terfermentasi secara spontan. Jenis bakteri yang telah diisolasi dan diidentifikasi yaitu bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Yusmarini dkk. (2010) menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 mampu menghasilkan produk fermentasi susu kedelai yang bersifat hipokolesterolemik. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui apakah isolat *Lactobacillus plantarum* 1 hasil isolasi dari susu kedelai yang terfermentasi spontan serta supernatan bebas sel mempunyai sifat antimikroba terhadap bakteri patogen.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian dan Laboratorium Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Riau. Waktu penelitian berlangsung dari bulan Juli hingga September 2013.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2

dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 (yang diperoleh dari koleksi pribadi Dr. Yusmarini). Sebagai pembanding digunakan isolat *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 dan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat

Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Bahan kimia yang digunakan meliputi *deMan Rogosa Sharp Broth*, *Muller Hinton Agar*, *Nutrien Broth*, agar-agar swallow dan akuades.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, jarum ose, tabung reaksi, *autoclave*, pipet ukur 1 ml, timbangan analitik, refrigerator, *laminar air flow*, alat sentrifugasi, *hockey stick*, inkubator, penangas air, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, batang pengaduk, penjepit, *aluminium foil*, jangka sorong, pipet tetes, *automatic mixer*, lampu bunsen, kertas cakram, tisu, kertas label dan alat-alat tulis.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 isolat perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan terdiri dari isolat bakteri asam laktat yaitu:

1. *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2
2. *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2
3. *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051
4. *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040

Aktivitas antimikroba diuji dengan menggunakan metode difusi sumur dan difusi kertas cakram. Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik.

Pelaksanaan Penelitian

Sterilisasi Peralatan

Peralatan yang digunakan dicuci dengan detergen sampai bersih, kemudian dilakukan pengeringan dan dihindarkan dari debu atau kotoran lain. Setelah kering peralatan gelas (tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, pipet tetes kaca, spatula,

gelas ukur serta gelas piala) disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Tabung reaksi terlebih dahulu ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil, untuk gelas piala, gelas ukur, pipet tetes kaca, spatula dan cawan petri dibungkus menggunakan koran dan plastik, sedangkan erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan plastik. Jarum ose disterilisasi dengan pemijaran di atas lampu bunsen sampai pijar.

Pembuatan Media

a. Pembuatan Media MRS Broth untuk Perbanyakan Isolat Bakteri Asam Laktat

Media untuk perbanyakan bakteri adalah MRS Broth yang dibuat dengan menimbang 2,08 gram MRS Broth dan dilarutkan dengan 40 ml akuades dalam erlenmeyer. Larutan didistribusikan ke dalam tabung reaksi dengan masing-masing bagian 5 ml lalu ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil. Kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Medium ini siap digunakan untuk perbanyakan bakteri.

b. Pembuatan Media Nutrient Broth untuk Perbanyakan Bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15

Media yang digunakan untuk perbanyakan bakteri patogen adalah *Nutrient Broth* (NB) yang dibuat dengan melarutkan 0,4 gram bubuk NB ke dalam 50 ml akuades. Larutan didistribusikan ke dalam tabung reaksi dengan masing-masing bagian 5 ml lalu ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil. Kemudian disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu

121°C. Medium ini siap digunakan untuk perbanyakan bakteri patogen.

c. Pembuatan Media Muller Hinton Agar

Media yang digunakan untuk *plating* adalah Muller Hinton Agar (MHA) yang dibuat dengan cara melarutkan 6,12 gram bubuk MHA ke dalam 180 ml akuades, larutan yang terbentuk dimasukkan ke dalam erlemeyer kemudian dipanaskan hingga homogen. Kemudian disterilkan dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Media dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing 20 ml dan dibiarkan sampai menjendal (memadat).

Perbanyakan Bakteri Asam Laktat

Isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 dan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 masing-masing diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam tabung reaksi yang berisi media MRS Broth 5 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator sehingga diperoleh kultur aktif yang ditandai dengan perubahan media menjadi keruh. Diagram alir perbanyakan bakteri asam laktat dapat dilihat pada Lampiran 1.

Perbanyakan Bakteri Uji (*Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19)

Isolat *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 masing-masing diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam tabung reaksi yang berisi media *Nutrient Broth* 5 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator sehingga diperoleh kultur aktif yang

ditandai dengan perubahan media menjadi keruh. Diagram alir perbanyakan bakteri uji (*Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19) dapat dilihat pada Lampiran 2.

Persiapan Supernatan Bebas Sel dari Isolat Bakteri Asam Laktat

Bakteri *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 masing-masing sebanyak 0,1 ml diinokulasikan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi 5 ml media *deMan Rogosa Sharp Broth* (MRS Broth) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu media berisi isolat dipindahkan ke *laminar-flow* lalu dituang ke dalam tabung reaksi kecil dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Diagram alir persiapan supernatan bebas sel dari isolat bakteri asam laktat dapat dilihat pada Lampiran 3. Tujuan disentrifugasi adalah untuk memisahkan isolat dari supernatan. Hasil sentrifugasi berupa cairan jernih (supernatan) dipisahkan dari sel (padatan) dengan cara mengambil supernatan menggunakan mikropipet dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril.

Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat pada Bakteri Uji (*Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19)

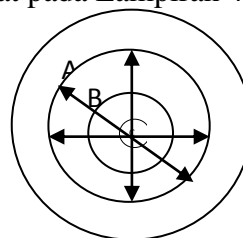
Uji aktivitas antimikroba isolat bakteri asam laktat menggunakan metode sumur yang mengacu pada Poelongan dkk., (2006) dan NCCLS (2000). Muller Hinton Agar (MHA) yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat pada

suhu kamar. Media tersebut diinokulasikan dengan 0,1 ml suspensi bakteri uji dan diratakan dengan *hockey stick*, kemudian didiamkan hingga kering selama 15 menit. Setelah itu dibuat lubang (sumuran) dengan menggunakan ujung pipet steril dan lubang sumur dilapisi dengan agar-agar steril. Sebanyak 50 µl isolat bakteri asam laktat yang diuji ditambahkan ke dalam sumuran yang telah disiapkan. Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji oleh bakteri asam laktat. Diameter zona hambatan diukur dengan jangka sorong sebanyak tiga kali pada posisi yang berbeda dan dirata-ratakan seperti

Uji Aktivitas Antimikroba Supernatan Bebas Sel pada Bakteri Uji (*Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19)

Uji aktivitas antimikroba supernatan bebas sel menggunakan metode difusi pada kertas cakram yang mengacu pada Poelongan dkk., (2006). *Muller Hinton Agar* (MHA) yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat pada suhu kamar. Media tersebut diinokulasikan dengan 0,1 ml suspensi bakteri uji dan diratakan dengan *hockey stick*, kemudian didiamkan hingga kering selama 15 menit. Setelah itu kertas cakram steril dicelupkan ke dalam supernatan bebas sel dan ditempatkan di atas media MHA yang telah diinokulasikan bakteri uji. Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji oleh

dilihat pada Gambar 6. Diagram alir uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat pada bakteri uji (*Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19) dapat dilihat pada Lampiran 4.



Keterangan :

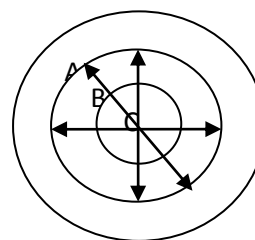
A : Cawan petri (media MHA)

B : Zona hambatan (zona bening)

C : Sumur untuk isolat

↔ : Pengukur diameter zona hambatan

Gambar 6. Metode pengukuran zona hambatan isolat bakteri asam laktat. supernatan. Diameter zona hambatan diukur dengan jangka sorong sebanyak tiga kali pada posisi yang berbeda dan dirata-ratakan seperti dilihat pada Gambar 7. Diagram alir uji aktivitas antimikroba supernatan bebas sel pada bakteri uji (*Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19) dapat dilihat pada Lampiran 5.



Keterangan :

A : Cawan petri (media MHA)

B : Zona hambatan (zona bening)

C : Kertas cakram untuk supernatan

↔ : Pengukur diameter zona Hambatan

Gambar 7. Metode pengukuran zona hambatan supernatan bebas sel

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada

taraf 5%. Uji T dilakukan untuk membandingkan antara zona hambat yang dihasilkan oleh isolat dengan zona hambat yang dihasilkan oleh supernatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antimikroba Isolat Bakteri Asam Laktat terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa diameter zona

hambat isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil analisis sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 6 dan 7. Rata-rata diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter zona hambat isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15

Jenis Isolat	Zona Hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i> FNCC-19	<i>Staphylococcus aureus</i> FNCC-15
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R 1.3.2	5,95 ^c	4,09 ^c
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R 11.1.2	3,72 ^b	2,56 ^b
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	2,06 ^b	1,48 ^b
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	0,00 ^{a*}	0,00 ^{a*}

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

* = tidak terdeteksi

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak semua isolat BAL mempunyai aktivitas antimikroba seperti *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040. *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 mempunyai aktivitas antimikroba lebih besar dibandingkan isolat BAL lainnya. Hal ini ditandai dengan lebih besarnya zona bening di sekitar sumuran. Gambar zona bening untuk isolat dapat dilihat pada Lampiran 12 (Gambar 1-8). Zona bening menunjukkan bahwa *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 tidak tumbuh di sekitar sumuran yang telah diinokulasi dengan isolat BAL. Semakin luas

zona bening yang terbentuk semakin sensitif bakteri patogen yang diujikan tersebut terhadap senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat. Daya hambat isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 dan *Lactobacillus acidophilus* 0051 secara statistik berbeda tidak nyata dan jauh lebih besar dibanding *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 yang tidak mempunyai zona hambat.

Aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh BAL dapat berupa asam organik. Asam-asam organik akan menyebabkan turunnya nilai pH pada medium yang secara tidak

langsung akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen yang berada di sekitarnya. Asam organik yang dihasilkan selain menyebabkan penurunan pH juga dapat menyebabkan sitoplasma sel

menjadi asam (Alokami dkk., 2000). Hasil analisis menunjukkan bahwa pH media yang diinokulasikan oleh BAL bervariasi seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai pH media yang diinokulasikan isolat bakteri asam laktat

Jenis Isolat	pH
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.1.3.2	3,8
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.11.1.2	3,8
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	5,2
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	4,0

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai pH medium yang diinokulasi *Lactobacillus plantarum* 1 lebih rendah dibandingkan medium yang diinokulasi *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040. Rendahnya nilai pH mengakibatkan daya hambat lebih besar, namun ada faktor-faktor lain seperti etanol, karbondioksida, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin yang juga diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-19.

Berdasarkan data pada Tabel 1 dan 2 terlihat bahwa *Staphylococcus aureus* FNCC-19 lebih resisten terhadap pH rendah dibandingkan dengan *Escherichia coli* FNCC-19. Hal ini ditandai dengan kecilnya zona hambat pada *Staphylococcus aureus* FNCC-19. Fardiaz (1992) menyatakan bahwa *Escherichia coli* dapat hidup pada pH 7,0-7,5 dan *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada pH 4,0-8,0.

Medium yang diinokulasi *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 mempunyai nilai pH yang relatif sama namun isolat tersebut

memiliki aktivitas antimikroba yang berbeda. Aktivitas antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 lebih besar dibanding *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2. Hal ini membuktikan bahwa aktivitas antimikroba tidak hanya berasal dari asam organik tetapi juga diduga karena adanya komponen-komponen lain yang juga berperan. Menurut Delgado dkk (2001) aktivitas penghambatan bakteri asam laktat terjadi oleh akumulasi metabolit primer (asam laktat, asam asetat, etanol dan karbondioksida) dan produksi komponen antimikroba lain seperti hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin.

Aktivitas antimikroba supernatan bebas sel terhadap *Escherichia coli* FNCC- 19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15

Supernatan bebas sel yang diperoleh dari keempat BAL memiliki aktivitas antimikroba. Supernatan diperoleh dengan cara melakukan sentrifugasi terhadap kultur untuk memisahkan sel dan supernatan bebas sel pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

Hasil pengujian aktivitas penghambatan supernatan bebas sel terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 yang dianalisis secara statistik menunjukkan perbedaan

yang nyata ($P < 0,05$). Hasil analisis sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 8 dan 9. Rata-rata diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter zona hambat supernatan bebas sel terhadap bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15

Jenis Supernatan	Zona Hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i> FNCC-19	<i>Staphylococcus aureus</i> FNCC 15
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.1.3.2	1,70 ^c	0,50 ^b
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.11.1.2	1,13 ^b	0,44 ^{ab}
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	0,58 ^a	0,48 ^b
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	0,57 ^a	0,36 ^a

Ket: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf 5%.

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa supernatan bebas sel mempunyai aktivitas antimikroba. Semua supernatan bebas sel isolat bakteri asam laktat mempunyai daya hambat terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Adanya aktivitas antimikroba ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram.

Supernatan bebas sel *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 mempunyai daya hambat yang lebih besar dibandingkan supernatan bebas sel lainnya terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 maupun terhadap *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Hal ini dapat dilihat pada Lampiran 12 (Gambar 9 dan 16). Besarnya zona hambat yang dihasilkan disebabkan karena supernatan bebas sel

Lactobacillus plantarum 1 R.1.3.2 mempunyai nilai pH yang lebih rendah dibandingkan supernatan bebas sel lainnya.

Aktivitas antimikroba dari supernatan bebas sel dapat berupa senyawa-senyawa metabolit (hidrogen peroksida, karbondioksida dan lain-lain) selain asam organik. Asam-asam organik akan menyebabkan turunnya nilai pH pada medium yang secara tidak langsung akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen yang berada di sekitarnya. Namun selain pH, senyawa metabolit yang dihasilkan juga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai pH media supernatan bebas sel bervariasi seperti terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai pH supernatan bebas sel

Jenis Supernatan	pH
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.1.3.2	3,9
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.11.1.2	4,0
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	5,3
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	4,3

Berdasarkan Tabel 3 dan 4 dapat dilihat bahwa supernatan bebas sel memiliki zona hambat yang lebih besar terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 dibandingkan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Hal ini disebabkan karena bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 lebih sensitif terhadap pH rendah dibandingkan bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Diketahui bahwa *Escherichia coli* FNCC-19 merupakan kelompok Gram negatif sedangkan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 kelompok Gram positif. Ray (2003) menyatakan bahwa bakteri Gram negatif sensitif terhadap tingkat keasaman yang rendah dibandingkan bakteri Gram positif. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada derajat keasaman (pH) 4,0 sampai 8,0 dan *Escherichia coli* dapat hidup pada pH 7,0-7,5 (Fardiaz, 1992).

Supernatan bebas sel memiliki nilai pH yang tidak jauh berbeda dengan isolatnya (Tabel 2 dan 4), namun zona hambat yang dihasilkan oleh supernatan lebih kecil dibandingkan dengan isolatnya. Kecilnya diameter zona hambat supernatan bebas sel terhadap bakteri patogen dapat disebabkan karena supernatan bebas sel hanya didukung oleh komponen-komponen metabolit bakteri asam laktat selain asam organik seperti hidrogen peroksida, diasetil, etanol dan bakteriosin. Selain hanya didukung oleh komponen komponen metabolit hal ini juga diduga karena konsentrasi senyawa antimikroba yang ditetesi merupakan konsentrasi terendah dari nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC). Nilai MIC merupakan konsentrasi terendah yang dapat menurunkan pertumbuhan bakteri uji.

Beberapa senyawa

antimikroba membutuhkan konsentrasi yang besar agar aktivitas antimikrobanya lebih efektif. Etanol efektif menghambat mikroorganisme dalam konsentrasi 18-22% (Dillon dan Cook, 2000). Hidrogen peroksida bersifat bakteriostatik pada konsentrasi 6-8 mg/ml (Ray dan Daeschel, 1992). Diasetil bersifat bakterisidal pada konsentrasi yang besar dan efektif pada pH rendah yaitu 5,0 (Dillon dan Cook, 2000).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat dan supernatan bebas sel memiliki zona hambat yang lebih besar terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. Hal ini disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* FNCC-15 merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel lebih tipis, sehingga akumulasi senyawa antimikroba akan mudah masuk ke dalam membran sel.

Aktivitas antimikroba BAL menyebabkan adanya perubahan dinding sel pada bakteri patogen sehingga mengakibatkan lisis. Adanya suatu zat antimikroba yang dihasilkan BAL mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sitoplasma pada bakteri uji sehingga terjadi kebocoran zat nutrisi dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim bakteri patogen. Terhambatnya kerja enzim bakteri patogen akan menyebabkan denaturasi protein sel serta merusak sistem metabolisme dalam sel sehingga yang berakibat pada kematian pada bakteri patogen.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 namun *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 tidak mampu menghambat *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15.
2. Semua supernatan bebas sel mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15.
3. Isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan supernatan bebas selnya memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan isolat dan supernatan bebas sel lainnya terhadap *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi jenis metabolit antimikroba yang dihasilkan isolat *Lactobacillus plantarum* 1.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakomi, H. L., E. Skytta., M. Saarela and S. T. Mattila. 2000. **Lactic acid permeabilizes Gram negative bacteria by disrupting the outer membrane.** Journal Applied Environmental Microbiology. Volume 66.
- Delgado, A., D. Brito., P. Fevereiro., C. Peres and J.F. Marques. 2001. **Antimicrobial activity of *L. plantarum*, isolated from a traditional lactic acid fermentation of table olives.** EDP Science 81 (1): 203-215.
- Dillon, V. M and P. E. Cook. 2000. **Biocontrol of undesirable microorganisms in food.** In: **Dillon, V.M. and R.E. Board (eds).** Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation. Wallingford. CAB International.
- Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan.** Gramedia pustaka Utama. Jakarta.
- Kusumawati, N. 2002. **Seleksi bakteri asam laktat indigenus sebagai galur probiotik dengan kemampuan mempertahankan keseimbangan mikroflora feses dan mereduksi kolesterol serum darah tikus.** Tesis. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standar). 2000. **Identification and antimicrobial susceptibility testing *Salmonella* serotype *thypii*.** Manual for identification and antimicrobial Susceptibility Testing. World Health Organization. New York.
- Poelongan, M., Chairul., I. Komala., S. Salmah dan M. N. Susan. 2006. **Aktivitas antimikroba an fitokimia dari beberapa tanaman obat.** Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.

- Ray, B. 2003. *Fundamental Food Microbiology* 3rd Ed. CRC Press, London.
- Ray, B and M. Daeschel. 1992. **Food Biopreservatives of Microbial Origin**. Boca Raton. CRC Press.
- Tribowo, E. A. 2006. **Aktivitas antimikroba *Lactobacillus* sp hasil isolasi dari daging sapi terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif**. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yusmarini, R. Indrati., T. Utami dan Y. Marsono. 2009. **Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat proteolitik dari susu kedelai yang terfermentasi spontan**. Jurnal Natur Indonesia. 12: 28-33
- Yusmarini, R. Indriati., T. Utami dan Y. Marsono. 2010. **Kemampuan susu kedelai yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* 1 dalam mengikat asam empedu**. Majalah Farmasi Indonesia. 21(3): 205-211.